HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	脊髄上行路形成過程とその小脳局在投射の解析［全文の要約］
Author(s)	荒川, 貴弘
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。【担当：薬学部図書室】 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11412号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55805
Type	doctoral thesis
File Information	Takahiro_Arakawa_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称　博士（生命科学）　　氏 名　荒 川　貴 弘

学 位 論 文 題 名

脊髄上行路形成過程とその小脳局在投射の解析

神経細胞は、増殖、分化、細胞移動、軸索の伸長を経て、別の神経細胞と繋がり合い、複雑で緻密なネットワークを形成する。このような回路網の形成は無秩序なものではなく、中枢神経系を構成する神経細胞の軸索は、周囲の細胞や組織から受ける入力を元に定められた接続先へと投射し、各々特定の神経伝導路を構成している。
中枢神経系の形成は、個体の発生という、神経細胞自身もその周囲の組織も大きく変化する環境の中で行われるため、その形成過程を知ることは、伸長の経路に存在する組織や細胞がどのようにして軸索を誘導し、最終的に複雑な回路網の形成へと繋がるのか、その構築に関わる機構を知る上で重要である。

中枢神経系の中で、脊髄は上位中枢と末梢を結び情報の伝達を行う役割を果たしている。中でも脊髄上行性伝導路（以下脊髄上行路）は末梢から上位中枢へ、触覚や痛覚、深部覚等の情報を伝える伝導路である。成体において、脊髄上行路を構成する細胞体の位置や、軸索群が辿る経路、その投射先については詳しい情報が得られている。しかしながら、その形成過程はこれまでほとんど明らかとなってこなかった。

脊髄上行路の形成過程の研究が進まなかった理由として、技術的な困難が挙げられる。胎生のモデル動物では脊髄の特定部位への実験操作が難しく、特定の時期に誕生し特定の機能を持つ神経細胞群を選択的に標識し、軸索の伸長過程を経時的に追跡する方法がほとんど存在していなかった。また、脊髄上行路の軸索は標的に達するまで比較的長い距離を数日間かけて伸長するため、誕生から標的組織の到達までの期間において軸索を感度良く可視化することが難しかった。これらの難点を克服するため、発生初期の脊髄への実験操作が容易なニワトリ胚をモデル系として採用し、*in ovo* electroporation 法に改良を加えた部位選択的な遺伝子導入と、GPI アンカー型ヒト耐熱性アルカリフォスファターゼを用いた高感度な標識法を組み合わせた。これにより、胚のおおよそ単体節程度に限局した領域に由来し、遺伝子を導入した時期に誕生した神経軸索群の軸索伸長過程を追跡することが可能となった。

本研究では、この手法を用いて、異なる器官から入力を受ける体節として、四つの脊髄体節、仙腰部 LS2・胸部 T4・上腕部 C14・頚部 C7 より発する軸索群を標識し、脊髄上行路の形成過程を詳細に記述することに初めて成功した。これにより、脊髄上行路の形成過程において、どの神経細胞由来の軸索群が、どの時期に経路選択を行い、伸長速度の制御を受け、どの部位へと局在投射を行うかを明らかにすることができた。

まずは経路選択について、四つの体節から発する軸索群が走行する経路を時系列的に追うことで解析を行った。遺伝子導入側の対側を走行する軸索群は、腹側を走行する群と背側を走行する群に分かれて脊髄を上行し、延髄に進入後、腹側を通り上髄帆へ、もしくは背側を通り小脳へと向かった。同側を走行する軸索群は、脊髄の背側を上行し上髄帆もしくは小脳へと伸長した。四つの体節由来の軸索群は、おおむね共通した上記の経路を伸長するように観察された。しかしながら、軸索が対側を上行する際に分かれる腹側と背側の二つの経路のうちどちらを通るか、その割合は体節により差が見られた。C7 由来の対側を走行する軸索は脊髄内では主に背側の経路を走行し、延髄進入後は上髄帆へ向かう腹側の経路を走行した。一方で、他の体節に起始核を持つ軸索群の中には、脊髄対側を上行する間に腹側から背側の経路へと合流する軸索や、延髄進入後背側から腹側の経路へ、あるいは腹側から背側の小脳へ向かう経路へと合流するものが存在した。これは上行の初期に腹

側と背側に分かれた軸索群がそのまま延髄でも腹側と背側へ向かうのではなく、上行の途中や延髄進入後もその軸索の持つ性質に応じて経路選択がなされているためと考えられる。また、仙腰部・胸部由来の対側を走行する軸索群は、上腕部付近で伸長が揃い、その後はおおむね同時に延髄に進入し小脳へと到達した。このことから、仙腰部・胸部由来の対側を走行する軸索群は、脊髄内で伸長速度の制御が行われ、延髄への到達時期を揃えている可能性が示唆された。そこで、起始核から延髄到達までの発生の各段階において、軸索先端の位置の平均と発生段階の時間間隔および体節幅の平均から軸索伸長速度の算出を行い比較することで、軸索伸長速度の制御がどの時期に行われ、起始核の位置によってどのような差があるかを解析した。

対側・同側共に、仙腰部 LS2・胸部 T4 より発する軸索群の上行途上において、伸長速度の増加が認められた。速度増加が起こる時期に着目すると、対側を走行する軸索群では、仙腰部 LS2 を発する軸索群が HH28 でその伸長速度を倍増させていた。このとき、胸部 T4 を発する軸索群の伸長速度に変化はなく、これにより仙腰部 LS2 を発する軸索群が胸部 T4 を発する軸索群に上腕部で追いついていることが明らかとなった。その後、両体節由来の軸索群は伸長速度を速めつつ、おおよそ同様に延髄へ向けて上行していることが認められた。こうして、対側を走行する仙腰部と胸部由来の軸索が同じタイミングで延髄へと進入し小脳へ投射するものと推測される。その機構は不明であるが、上腕部に向けて誘引を行う遠距離作動性のガイダンス因子が存在し、仙腰部由来の軸索群のみがその感受性を持ち胸部由来の軸索群へと追いついている、もしくは、胸部近辺に軸索伸長に阻害的に働く因子群が存在し、その感受性を仙腰部由来の軸索群が持たないなどの可能性が考えられる。一方で、対側の上半身由来の軸索群や、同側を走行する軸索群ではこのような伸長速度の調整は認められなかった。

続いて、軸索が延髄に到達した後、どの時期にどの部位へと投射するか解析を進めた。延髄到達後の軸索は、主に小脳と上髄帆へ向かい伸長する。小脳での局在を解析することにより、仙腰部 LS2・胸部 T4・上腕部 C14 より発する軸索群はそれぞれ小脳内の異なる領域へと体部位局在性をもって間隔をおいて点状に投射することが明らかとなった。こうした投射パターンは縦縞状の機能領域を持つ小脳の区画に沿って投射が行われているためであると推察される。また、これらの投射領域は成体における脊髄小脳路の投射先の報告と一致していることから、脊髄小脳路を構成する軸索群は、小脳の形成後に投射領域の選択を行うのではなく、発生の途上における小脳形成に伴って限局された領域へと伸長し、起始核の位置ごとに異なる特定の部位へと投射するものと考えられた。

本研究により、脊髄上行路の形成過程の詳細を明らかにし、そこから脊髄小脳路を構成する神経軸索群がその形成の過程で伸長速度の制御を受け特定の部位へと投射を行うことを示した。本論文は、個体の発生という動的な環境下で中枢神経系がどのように構築されるか、その一例を明瞭に示すものであるとともに、当該伝導路構築の分子機構を明らかにするための基盤となるものである。